УДК 593.191.1

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КОРТИКАЛЬНОЙ ЗОНЫ ГРЕГАРИНЫ BOTHRIOPSIDES HISTRIO (EUGREGARINIDA: ACTINOCEPHALIDAE)

© И. Г. Воробьева,[1] А. Ю. Дякин[1]

[1] Санкт-Петербургский государственный университет,
кафедра зоологии беспозвоночных
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034
Биолого-почвенный ф-т, кафедра зоологии беспозвоночных
E-mail: ondredyakin@yandex.ru

Поступила 24.03.2011

В кишечнике пресноводного жука *Acilius sulicatus* нами были обнаружены прикрепленные и не прикрепленные трофозоиты грегарины *Bothriopsides histrio*. На светооптическом уровне на поверхности обнаруживается кольцевая складчатость, располагающаяся на границе прото-дейтомерита, и продольная исчерченность, проходящая вдоль всего тела паразита. В результате наших исследований выяснилось, что кольцевая складчатость — это своего рода воротничок, сформированный за счет экто- и эндоцита. Продольная исчерченность представляет собой супергребни, сформированные за счет эктоцита и эпицита. На всей поверхности клетки обнаруживаются многочисленные типичные эпицитарные гребни. Кроме того, было отмечено явление симбиоза между клетками грегарин и бактерий.

Ключевые слова: Bothriopsides histrio, кортикальная зона, кольцевая складчатость, супергребни, эпицит, микропора, ультраструктура, бактерии.

У эугрегарин в состав кортикальной зоны (кортекса) входят 2 структуры: эпицит и эктоцит. Под эпицитом понимают совокупность многочисленных узких продольных гребней, соответственно носящих название эпицитарных гребней (складок) (Симдянов, 2007). На поперечных срезах складки чаще всего имеют пальцевидную или булавовидную форму (Vivier, 1968; Mac Millan, 1973, и др.). Каждый эпицитарный гребень покрыт трехмембранной пелликулой. В его состав входят цитоплазма, сложно организованная система апикальных филаментов, а также электронно-плотный подстилающий слой фибриллярной природы (Симдянов, 2007). Многие авторы обнаруживали различные морфологические вариации в организации покровов грегарин (Vávra, Small, 1969; Vinckier, 1969; Mac Millan, 1973; Фролов, 1991, и др.).

Для изучения ультраструктурной организации кортекса нами была выбрана грегарина *Bothriopsides histrio* (Schneider, 1875) Foester, 1938 (отряд

Eugregarinida, подотряд Septata) на стадии трофозоита. Паразит представляет собой крайне удобный модельный объект, так как обладает крупными размерами (до 830 мкм) (Lipa, 1967). Грегарины локализуются в кишечнике личинок и взрослых особей жуков, относящихся к сем. Dytiscidae (Baudoin, 1967). Эти жуки обычны в природных водоемах и крайне неприхотливы в содержании.

Трофозоиты септатных грегарин представляют собой одноклеточные организмы, чье тело состоит из двух отделов (протомерит и дейтомерит), либо из трех (эпимерит, протомерит и дейтомерит). Протомерит от дейтомерита отделен поперечной перегородкой — септой, имеющей филаментозную структуру (Clopton, 2000; Симдянов 2007).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования были проведены на базе кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета в 2005, 2006 гг.

Жуков *Acilius sulicatus* L. собирали в одном из пожарных водоемов садоводства «Лебяжье» Ленинградской обл. (пос. Рощино, станция 63-й км) в период с сентября по октябрь 2005 года.

Всего было поймано 152 особи *Acilius sulicatus*, 53 из которых оказались зараженными грегаринами вида *Bothriopsides histrio*. Пойманных животных содержали в аквариуме при температуре +20 °С с сентября по ноябрь 2005 г.

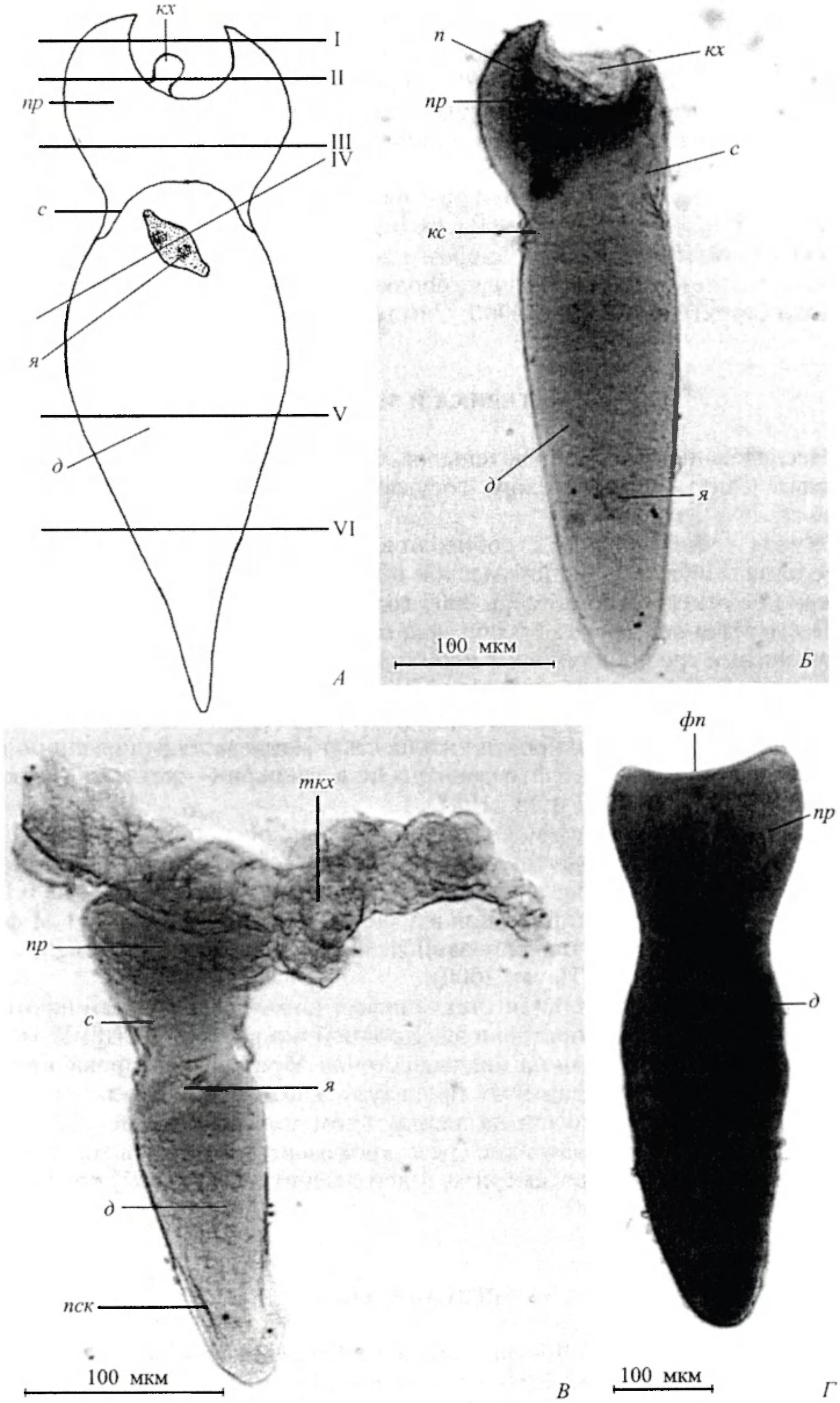
Для изготовления тотальных временных препаратов отдельные клетки *Bothriopsides histrio* фиксировали жидкостью Ценкера; окрашивали по методу Романовского—Гимза и заключали в глицерин—желатин (Роскин, Левинсон, 1957; Иванов и др., 1981).

При подготовке объектов к электронному микроскопированию использовали стандартные электронно-микроскопические методы. Фиксацию производили 3 %-ным раствором глютаральдегида, разведенным на 0.1 М фосфатном буфере. Постфиксация в 1 %-ном растворе OsO_4 на 0.1 М фосфатном буфере, pH 7.5. Фиксированный материал заключили в смесь смолы Epon 812—Araldite (Hayat, 2000).

Резку блоков производили стеклянными ножами на ультрамикротоме УМПТ-3 в Учебной лаборатории электронной микроскопии СПбГУ. Полученные срезы переносили на медные сеточки. При контрастировании срезов использовали стандартную процедуру контрастирования (Reynolds, 1963). Сетки просматривали на электронном микроскопе Leo-910. Нами были изготовлены ультратонкие срезы трофозоитов на 6 уровнях, 3 из которых соответствуют протомериту, 2 дейтомериту, а 1 (косой) проходит в области септы (рис. 1, *А*).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В кишечнике жука *Acilius sulicatus* нами были обнаружены прикрепленные и не прикрепленные клетки *Bothriopsides histrio*. В среднем свободно лежащие трофозоиты крупнее (620 мкм) прикрепленных (353 мкм). У всех


кх
I
II
пр
III
IV
с
я
V
д
VI
А
п
кх
пр
с
кс
д
я
100 мкм
Б
ткх
пр
с
я
д
пск
100 мкм
В
фп
пр
д
100 мкм
Г

обнаруженных нами трофозоитов тело отчетливо поделено септой на 2 сегмента — протомерит и дейтомерит (рис. 1). Отделы тела хорошо выражены у всех обнаруженных нами паразитов. Септа имеет куполовидную форму, ее выпуклая сторона обращена в сторону протомерита. При помощи протомерита грегарины прикрепляются к эпителиальной выстилке кишечника хозяина. В этом случае протомерит имеет либо сферическую форму с обширной инвагинацией фронтальной поверхности (рис. 1, *Б*), направленной к центру, либо форму усеченного конуса (рис. 1, *В*).

Зачастую свободные, не прикрепленные трофозоиты сжаты в одной из плоскостей, фронтальная поверхность протомерита слегка вогнута (рис. 1, *Г*).

Дейтомерит чаще всего массивный, веретеновидной формы, в большинстве случаев расширяется сразу за септой и плавно сужается к заднему концу (рис. 1, *Б*—*Г*).

На светооптическом уровне на поверхности тела *Bothriopsides histrio* удается различить два типа складчатости. В передней части протомерита и на границе прото-дейтомерита располагаются кольцевые складки; центральную часть протомерита и весь дейтомерит покрывают продольные складки (рис. 1, *В*).

Снаружи клетка паразита покрыта пелликулой альвеолярного типа, толщина которой в среднем достигает 40 нм (рис. 2, *А*; см. вкл.). Гликокаликс сохраняется на латеральных плотно прилегающих друг к другу поверхностях эпицитарных гребней, в то время как на апикальных поверхностях последних он не обнаружен. На расстоянии примерно 20 нм от плазмалеммы расположены 2 мембраны внутреннего мембранного комплекса. Пространство между плазмалеммой и альвеолами заполнено гетерогенным матриксом. Сильного сближения внутренней и средней мембран не происходит, расстояние между ними примерно равно 20 нм (рис. 2, *А*).

Организация эпицита грегарины *Bothriopsides histrio* на разных участках тела принципиально сходна, однако есть некоторые различия в форме и размерах эпицитарных гребней. На самой передней внешней поверхности протомерита (I уровень) располагаются невысокие до 200 нм в высоту гребни; в ширину они достигают 150 нм. В основании гребни часто сильно сужены (рис. 2, *Б*). Обычно они сгруппированы по 2—6 шт. Между группами расположены борозды в среднем 115 нм шириной (рис. 2, *Б*).

На остальной поверхности тела эпицитарные гребни располагаются равномерно и сильно сближены (рис. 2, *А*, *Г*). Лишь в экваториальной зоне протомерита они лежат на расстоянии примерно 160 нм друг от друга (рис. 2, *В*; 3, *Б*).

Профили гребней, покрывающих остальные отделы тела (II, III, IV, V, VI уровни), на поперечном срезе сильно вытянуты и имеют пальцевидную

Рис. 1 Морфология трофозоитов *Bothriopsides histrio*.

А— схематичное изображение прикрепленного трофозоита, *Б* — внешний вид прикрепленного трофозоита, *В* — внешний вид прикрепленного трофозоита с участком кишечного эпителия хозяина, *Г* — свободный трофозоит. *д* — дейтомерит, *кс* — кольцевая складчатость, *кх* — клетки хозяина, *п* — полость, *пр* — протомерит, *пск* — продольная складчатость, *с* — септа, *ткх* — ткань хозяина, *фп* — фронтальная поверхность протомерита. *я* — ядро. Римскими цифрами отмечены уровни, на которых производили срезы. I, II, III — срезы в области протомерита, IV — косой срез в области септы, V, VI — срезы в области дейтомерита.

Fig. 1. Morphology of trophozoites of *Bothriopsides histrio*.

К ст. И. Г. Воробьевой, А. Ю. Дякина, с. 223

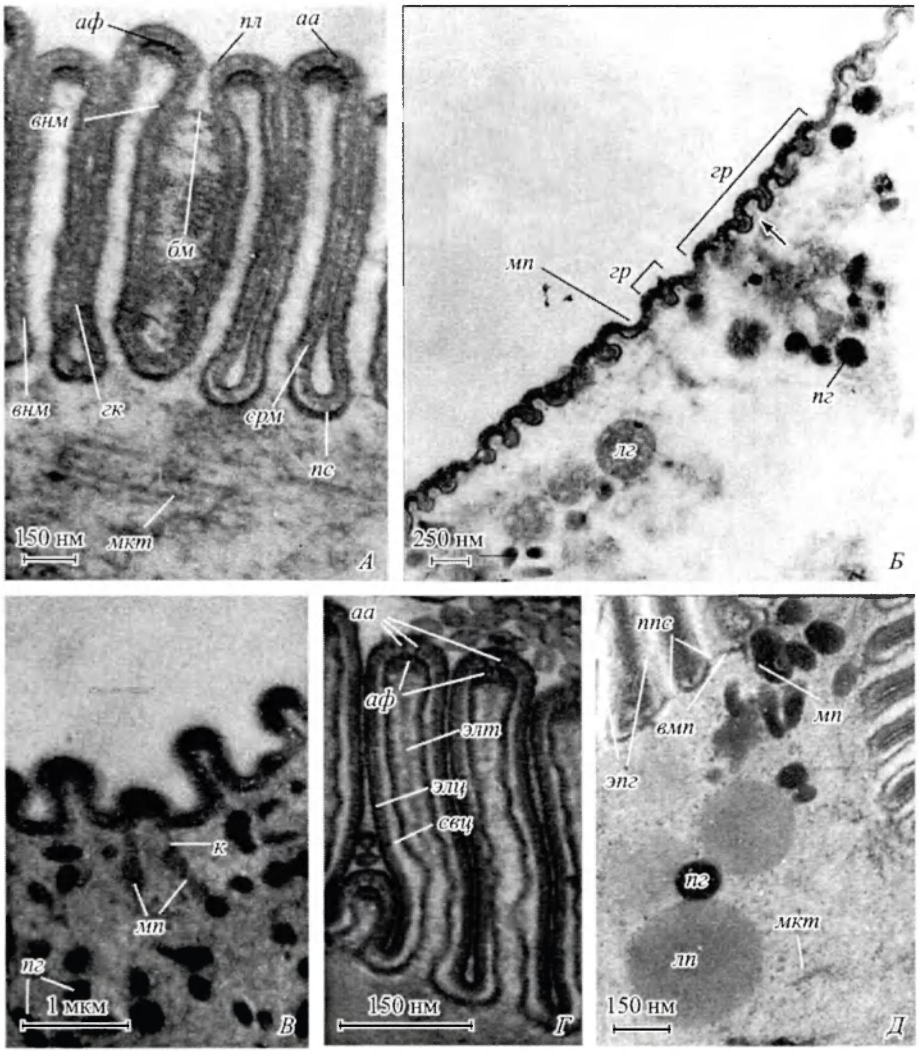


Рис. 2. Ультратонкая организация эпицитарных гребней и комплекса микропоры на различных участках трофозоита.

А— ультратонкая организация эпицитарных гребней (II уровень), *Б* — ультратонкая организация эпицитарных гребней наружной поверхности протомерита (I уровень) *В* — комплекс микропоры протомерита, *Г* — высокие и низкие эпицитарные гребни, *Д* — ультраструктурная организация комплекса микропоры дейтомерита. *аа* — апикальные арки, *аф* — апикальные филаменты, *бм* — бактериальная мембрана, *вмп* — воротничок микропоры, *внм* — внутренняя мембрана, *гк* — гликокаликс, *гр* — группа эпицитарных гребней, *к* — канал микропоры, *лг* — липидные глобулы, *мкт* — микротрубочки, *мп* — комплекс микропоры, *пл* — плазмалемма, *ппс* — перемычки подстилающего слоя, *пс* — подстилающий слой, *свц* — светлый слой цитоплазмы, *срм* — средняя мембрана, *элт* — электронно-плотный тяж, *элц* — электронно-плотный слой цитоплазмы, *эпг* — эпицитарные гребни. Стрелкой обозначено сужение эпицитарного гребня.

Fig. 2. Ultrastructural organization of epicytic folds and the complex of micropore at different sights of trophozoite's surface.

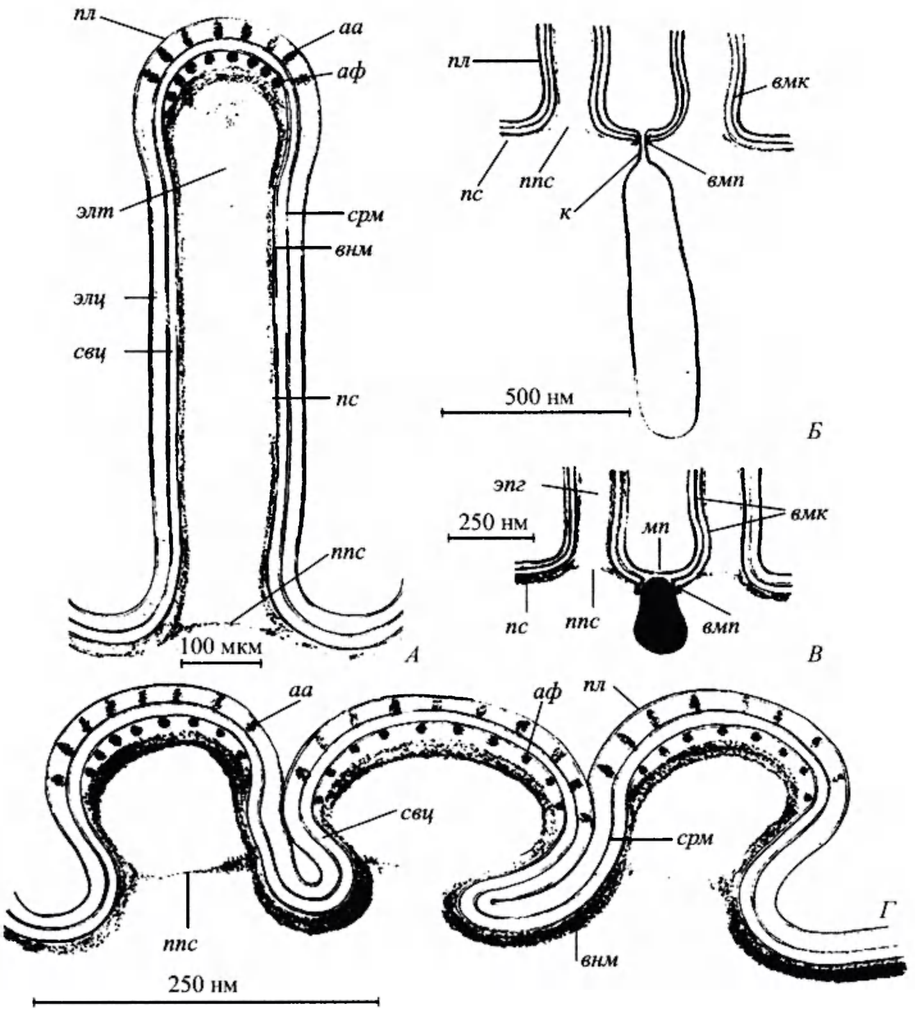


Рис. 3. Схема строения эпицитарных гребней и комплексов микропор на различных участках трофозоита.

А — эпицитарный гребень дейтомерита, *Б* — схема строения комплекса микропоры протомерита, *В* — схема строения комплекса микропоры дейтомерита, *Г* — схема строения эпицитарных гребней протомерита (I уровень). вмк — внутренний мембранный комплекс. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Fig. 3. Scheme of epicytic folds and the complex of micropore at different sights of trophozoite's surface.

форму. В апикальной части они слегка расширены, а в основании наблюдается небольшое сужение (рис. 2, *А*). Толщина в среднем составляет 200 нм. В высоту гребни в среднем достигают 800 нм, однако между высокими складками обнаруживаются и низкие, около 140 нм (рис. 2, *Г*).

В апикальной части эпицитарных гребней расположены 2 системы продольных фибриллярных структур, обычных для эпицита грегарин — апикальные арки и апикальные филаменты (рис. 2, *А*, *Г*). Апикальные арки залегают между плазматической мембраной и альвеолами, при этом нижний край граничит со средней мембраной, верхний обращен к плазмалемме.

В высоту они достигают 26 нм, в ширину 13 нм (рис. 2, *А*, *Г*). Апикальные филаменты залегают непосредственно под внутренней мембраной, их диаметр составляет 13 нм (рис. 2, *А*, *Г*). Количество апикальных арок и филаментов — 6—10, но при этом количество филаментов не всегда равно количеству апикальных арок. В низких эпицитарных гребнях число апикальных арок и филаментов может быть меньше, чем в высоких — всего 3 пары (рис. 2, *Г*). Арки и филаменты располагаются в шахматном порядке (рис. 2, *А*).

Непосредственно ко внутренней поверхности альвеол вплотную примыкает фибриллярный электронно-плотный подстилающий слой («базальная пластинка»), который довольно часто в основании гребней формирует перемычки (рис. 2, *Д*). В апикальной части гребня в области апикальных филаментов этот слой располагается на некотором расстоянии от альвеол (рис. 2, *А*).

В основании эпицитарных гребней располагаются микропоры. Микропора представляет собой комплекс, состоящий из инвагинации цитоплазматической мембраны, проксимальный участок которой имеет форму узкого канала и муфты. Последняя формируется за счет мембран альвеол и подстилающего слоя. В области протомерита (II, III уровни) глубина такого комплекса составляет примерно 900 нм (рис. 2, *А*).

В области дейтомерита обнаружены каплевидные электронно-плотные вакуоли (плотные гранулы), расположенные в непосредственной близости от основания эпицитарных гребней. В среднем их длина составляет 250 нм. Вакуоли заостренным концом контактируют с пелликулой, но слияния мембран не происходит. Однако в этом месте мембраны внутреннего мембранного комплекса и подстилающий слой прерываются и формируют муфту, подобную описанной выше (рис. 2, *Д*; 3, *В*).

Центральную часть эпицитарного гребня занимает цитоплазма, не содержащая каких-либо органоидов или включений. Во многих гребнях виден темный фибриллярный тяж, расположенный в центральной части, расширяющийся в верхушке гребня и сужающийся по направлению к основанию, но редко его достигающий (рис. 2, *Г*).

Как уже упоминалось выше, на границе прото- и дейтомерита (IV уровень) обнаруживается хорошо выраженая кольцевая складчатость. Поверхность складки покрыта многочисленными эпицитарными гребнями различной высоты. На электоронно-микроскопических фотографиях видно, что кольцевая складка формируется за счет экто- и эндоцита (рис. 4, *А*, см. вкл.).

Помимо эпицитарных гребней почти на всей поверхности клетки паразита имеются продольные складки или вторичные гребни, или супергребни, которые формируются исключительно за счет эктоцита (рис. 4, *Б*, *В*; 5, см. вкл.).

На I уровне среза супергребни отсутствуют (рис. 2, *Б*), но уже на уровне II они хорошо развиты. На II и III уровнях поверхность протомерита имеет волнообразный контур благодаря тому, что ширина супергребней превышает высоту 3.5 и 1.4 мкм соответственно (рис. 4, *Б*).

На поверхности дейтомерита также формируются высокие, сужающиеся к апикальному концу вторичные гребни. Высота в среднем составляет 3.2 мкм; толщина в основании 4.8 мкм; расстояние между вершинами —

К с. 225

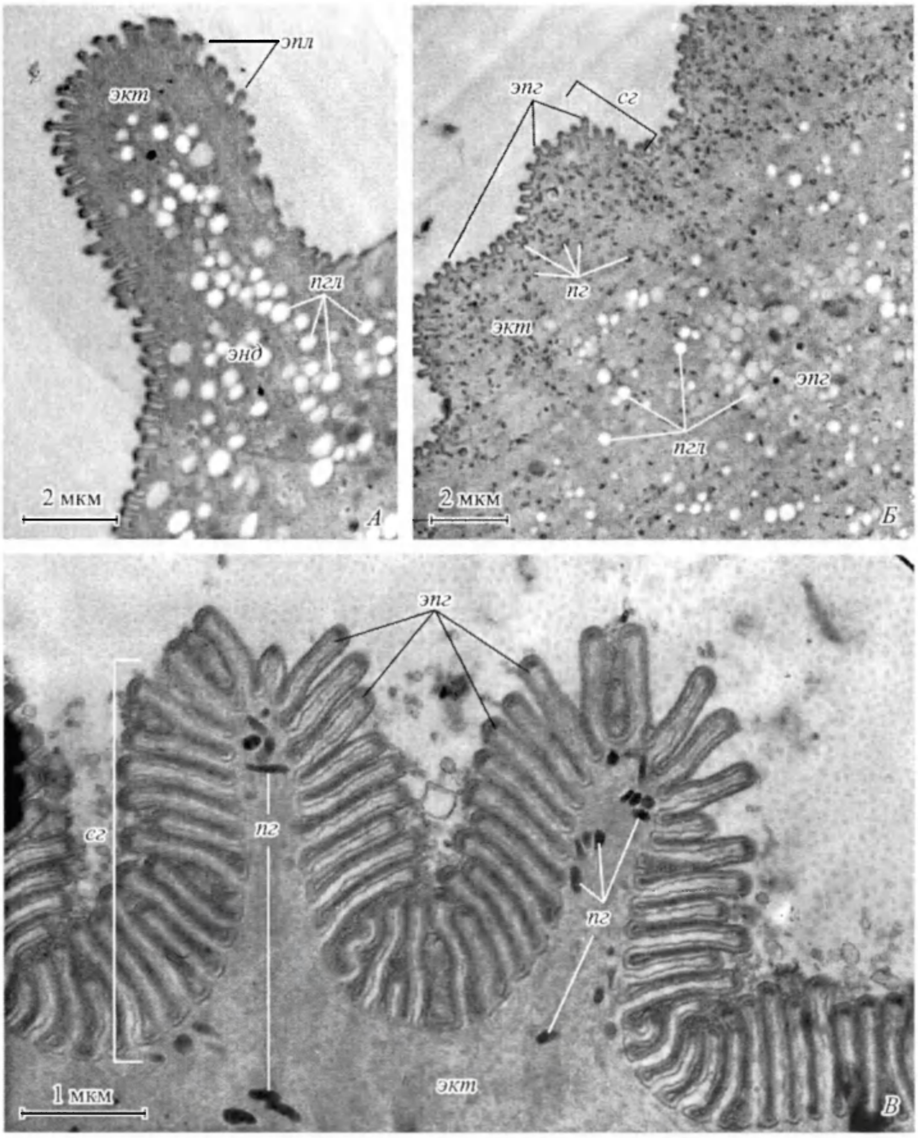


Рис. 4. Ультраструктура вторичных складок *Bothriopsides histrio*.

А — организация кольцевой складки протомерита (IV уровень), *Б* — общий вид поверхности протомерита (II уровень), *В* — общий вид поверхности дейтомерита (V уровень). *пгл* — парагликоген, *сг* — супергребень, *экт* — эктоцит, *энд*— эндоцит. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Fig. 4. Utrastructure of superfolds of *Bothriopsides histrio*.

К с. 225

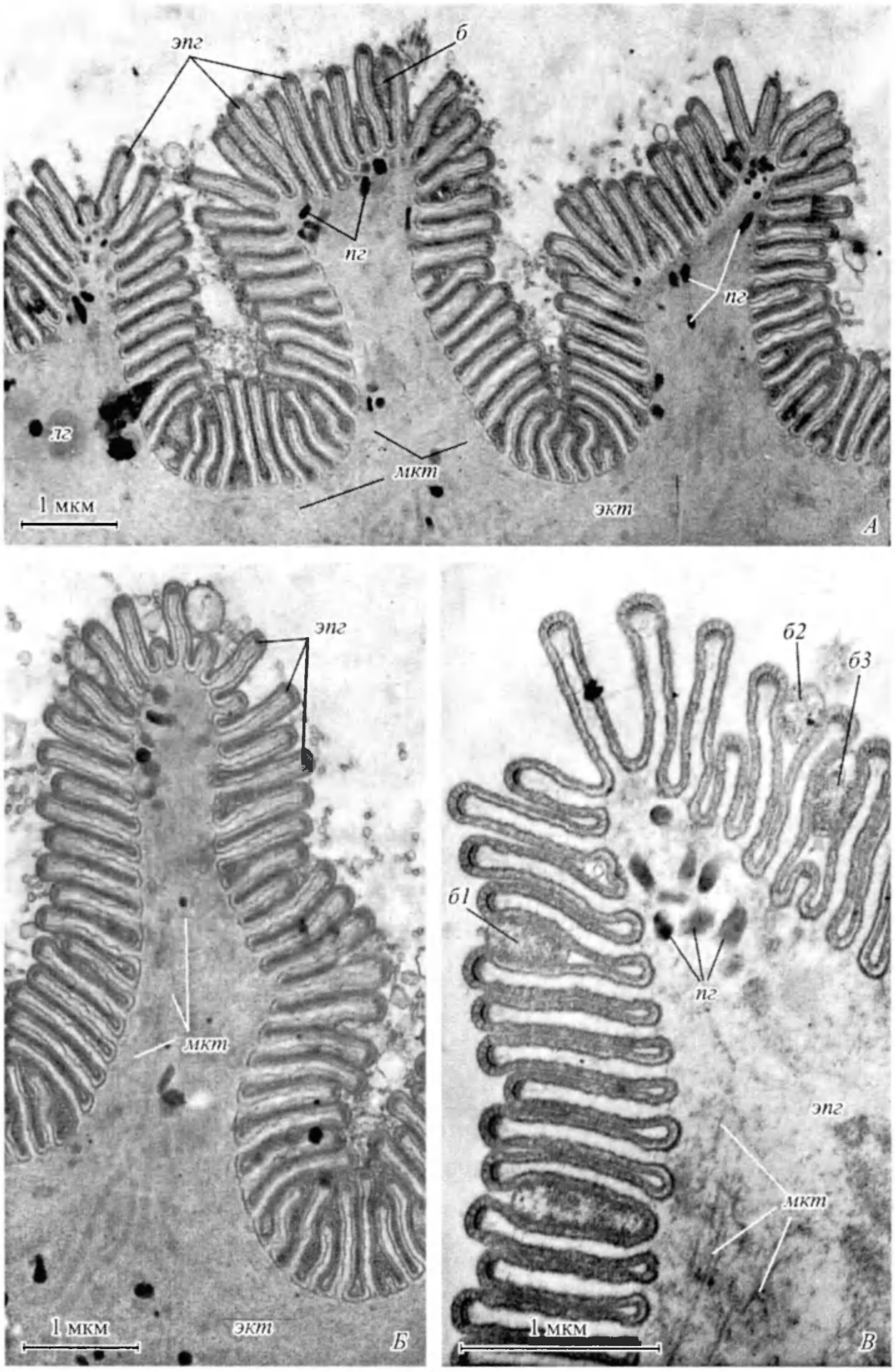


Рис. 5. Ультраструктура вторичных складок *Bothriopsides histrio*.

А — супергребень дейтомерита (VI уровень), *Б* — супергребень дейтомерита (VI уровень), *В* — супергребень дейтомерита (V уровень). б — бактериальная клетка; б1 — бактерия, расположенная в апикальной части эпицитарных гребней; б2 — бактерия, расположенная в средней части эпицитарных гребней; б3 — бактерия, расположенная в базальной части эпицитарных гребней. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2, 4.

Fig. 5. Ultrastructure of superfolds of *Bothriopsides histrio*.

4.1 мкм, основания так же как и на II и III уровнях, плотно соприкасаются (рис. 4, *В*).

На VI уровне продольные складки дейтомерита по форме сложнее. Некоторые из супергребней в апикальной части дихотомически ветвятся, другие на боковой поверхности формируют вздутие (рис. 5, *А*, *Б*).

Эктоцит протомерита представляет собой либо однородный матрикс, практически не содержащий включений (рис. 4, *А*), либо, напротив, содержит большое количество плотных гранул округло-овальной формы, содержимое которых гомогенно и тонко гранулировано (рис. 4, *Б*). Подобные гранулы также обнаружены связанными с комплексом микропоры (см. выше).

Эктоплазма дейтомерита практически не содержит каких-либо органоидов или включений, кроме электронно-плотных вакуолей, приуроченных к верхушкам суперскладок и часто контактирующих с пелликулой в области оснований эпицитарных гребней (рис. 2, *Д*; 4, *В*; 5). Они аналогичны плотным гранулам, которые встречаются в протомерите. Кроме них в эктоплазме вторичного гребня обнаруживаются крупные липидные глобулы, диаметр которых достигает 300 нм (рис. 2, *Д*).

В эктоците дейтомерита располагается сложная система микротрубочек. Часть формирует кольцевой слой, который соприкасается с основаниями супергребней. Другая часть микротрубочек простирается вдоль контура супергребня (рис. 5).

Довольно часто на поперечном срезе можно наблюдать изогнутость гребней дейтомерита, связанную либо с наличием различных гетерогенных включений, либо с присутствием между эпицитарными складками бактериальных клеток (в среднем 512 нм в длину), которые имеют в основном овальную, реже округлую форму (рис. 2, *А*; 5, *А*, *В*).

В области дейтомерита между эпицитарными гребнями, нами обнаружены бактериальные клетки (рис. 2, *Б*, *В*; 4, *Б*). Бактериальные клетки могут располагаться в основании, в средней части, либо между самыми апикальными отделами эпицитарных гребней. Между поверхностью бактерий и трофозоитов имеется тонкогранулированный гомогенный матрикс, по структуре соответствующий гликокаликсу (рис. 2, *А*).

В случае, если бактерии расположены на некотором расстоянии от апикального полюса эпицитарных гребней, ближе к основанию, верхушки эпицитарных складок над ними смыкаются (рис. 5, *В*).

Обобщенная схема организации супергребня в области дейтомерита представлена на рис. 6 (см. вкл.).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные о строении трофозоитов *Bothriopsides histrio* полностью или частично совпадают с ранее опубликованными (Baudoin, 1961, 1967; Lipa, 1967).

Трофозоиты *Bothriopsides histrio* характеризуются наличием кольцевой складчатости. Она обнаруживается в передней части протомерита и в зоне перехода протомерита в дейтомерит. Наличие такой складчатости переднего отдела тела грегарины явление не уникальное и встречается у ряда ис-

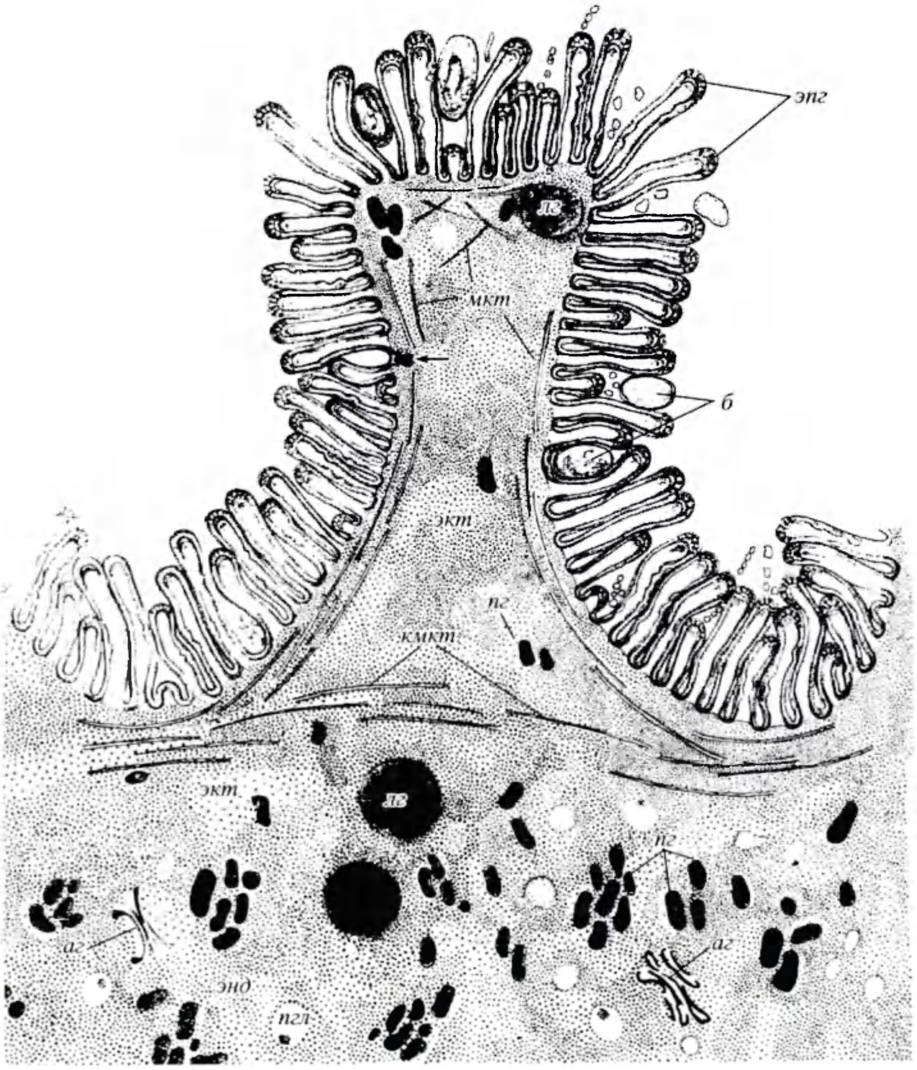


Рис. 6. Схема организации кортикальной зоны дейтомерита.

аг — аппарат Гольджи, *кмкт* — кольцевые микротрубочки. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2, 4.

Fig. 6. Scheme of cortical zone of deutomerite of *Bothriopsides histrio*.

следованных эугрегарин. Так, например, трофозоиты *Sycia inopinata* Léger, 1892 (Aseptata: Eugregarinida) характеризуются наличием мощного воротничка в основании прикрепительного аппарата (Schrével, Vivier, 1966). Для *Cnemidospora lutea* Schneider, 1882 и *Amphoroides circi* Trifitt, 1927 также характерны кольцевые складки на переднем конце тела. Эти складки, как и у трофозоитов *B. histrio*, формируются не только за счет кортикальной зоны, но и за счет эндоцита (Baudoin, 1978). По всей видимости, у первых двух грегарин складки формируются для дополнительной фиксации паразита на поверхности кишечного эпителия. Такие же соображения частично могут быть применены к исследуемой нами грегарине. Кольцевая складчатость может формироваться либо как способ дополнительной фиксации клетки паразита, либо чисто механически, т. е. при сгибании тела трофозоитов.

Вся поверхность трофозоитов покрыта многочисленными продольными эпицитарными гребнями. На разных участках тела эти гребни различаются по форме и размерам. На протомерите располагаются относительно низкие, округлые на поперечном срезе гребни, в то время как на поверхности дейтомерита формируются типичные булавовидные и относительно высокие гребни.

Ранее для многих грегарин также отмечались различия в форме профилей эпицитарных гребней на различных участках тела. В ряде случаев это может обусловлено видовыми особенностями трофозоитов, как например у *Gregarina blaberae* Frenzel, 1892 (Schrevel et al., 1983). В других случаях видоизменение эпицитарных гребней связано с изменением функциональной нагрузки на тот или иной отдел тела. У упоминавшейся выше грегарины *Amphoroides circi* на самой апикальной поверхности прикрепительного аппарата в непосредственном контакте с клетками кишечного эпителия располагаются уплощенные гребни, высота которых в несколько раз меньше, чем ширина. На поверхности кольцевой складки относительно высокие разветвленные в апикальной части гребни, а на остальной поверхности трофозоита профили гребней эпицита высокие и булавовидные (Baudoin, 1978). По всей видимости, поскольку протомерит берет на себя функцию прикрепления, заменяя эпимерит, происходит функциональное и морфологическое изменение эпицитарных гребней переднего отдела тела.

Для трофозоитов *Bothriopsides histrio* также характерна модификация протомерита, в результате которой он становиться органеллой прикрепления. Ранее отмечалось, что в процессе своего развития протомерит может обратимо и неоднократно изменять свою форму. Для обеспечения такой морфологической пластичности эпицитарные гребни уменьшаются по высоте и группируются в кластеры.

В целом ультраструктура эпицитарного гребня *Bothriopsides histrio* соответствует классической схеме организации данной структуры, описанной для множества грегарин (Vivier, 1968; Vávra, 1969; Vávra, Small, 1969; Walsh, Callaway, 1969; Vivier et al., 1970; Heller, Weise, 1973; Mac Millan, 1973; Sanders, Poinar, 1973; Hildebrand, 1980; Schrével et al., 1983; Lucarotti, 2000, и др.). Складка эпицита, как было описано выше, включает все элементы. Отсутствие гликокаликса на апикальных поверхностях эпицитарных гребней, скорее всего, можно объяснить тем, что он не сохраняется при выбранном способе фиксации и подготовки объектов к электронной микроскопии. Однако следует отметить, что гликокаликс сохраняется, если эпицитарные гребни располагаются вплотную друг к другу, пространство между ними заполнено темным содержимым, которое отсутствует между гребнями расположенными чуть дальше друг от друга.

Для некоторых грегарин с использованием сканирующей электронной микроскопии показано, что не все эпицитарные гребни достигают переднего или заднего конца тела (Vàvra, Small, 1969; Leander et al., 2003). При этом ряд авторов отмечает наличие на поперечных срезах через эпицит относительно низких эпицитарных гребней, которые располагаются в основании между высокими (Tronchin, Schérevel, 1977; Schrével et al., 1983; Walker et al., 1984).

Как уже отмечалось выше, на поверхности дейтомерита *Bothriopsides histrio* между высокими гребнями располагаются низкие. В некоторых случаях апикс низких гребней несет полный набор апикальных арок и апикальных филаментов (по 4—10 шт.), характерный для высокого гребня. Вероятно, это свидетельствует о том, что срез прошел в области, где гребень заканчивается и постепенно сходит на нет. Если апикальных арок и филаментов меньше (по 3 шт.), можно предположить, что срез прошел через самое начало эпицитарного гребня. Это подтверждается исследованиями по трансформации спорозоита в трофозоит и раннему развитию трофозоитов, а также ультраструктурными исследованиями эпицита (Devauchelle, 1968; Tronchin, Schrével, 1977; Schrével et al., 1983; Walker et al., 1984).

Для трофозоитов *Bothriopsides histrio* нами было показано наличие двух морфологически хорошо различимых типов комплексов микропор. В первом случае микропоры обладают типичной для споровиков структурой (Vivier, 1968; Scholtyseck, Mehlhorn, 1970; Vivier et al., 1970; Schrével et al., 1983). Имеется устье небольшого диаметра, армированное электронно-плотной муфтой, которое ведет в пузырек, ограниченный одной мембранной. Основываясь на косвенных данных, многие исследователи предполагают, что такой тип микропор служит для питания трофозоитов грегарин и кокцидий (Снигиревская, Хейсин, 1968; Vivier, 1968; Scholtyseck, Mehlhorn, 1970; Vivier et al., 1970; Schrével, 1971).

Обнаруженные нами на поверхности дейтомерита электронно-плотные каплевидные электронно-плотные вакуоли или плотные гранулы мы относим к микропорам второго типа, которые осуществляют экзоцитоз полисахаридов. Эти полисахариды формируют слизистую оболочку вокруг клетки грегарины. С одной стороны, эта оболочка уменьшает трение при движении, с другой, возможно, защищает паразита от пищеварительных ферментов хозяина (Vivier, 1968, Schrével, 1970, 1971; Симдянов, 1995).

У трофозоитов *Bothiopsides histrio* кроме эпицитарных гребней на поверхности прото- и дейтомерита формируются продольные складки второго порядка. В образовании таких супергребней принимает участие не только эпицит, но и эктоцит. Большинству исследованных септированных эугрегарин не свойственна модификация кортикальной зоны. Подобное явление отмечается для грегарины *Pyxinia firmus* Léger, 1892, на поверхности дейтомерита которой присутствуют невысокие вторичные складки кортикальной зоны. В этих складках довольно часто обнаруживаются митохондрии (Ormières, 1977). К сожалению, автор данного исследования не обсуждает строение кортикальной зоны.

Модификации кортикальной зоны в большей степени характерны для несептированных эугрегарин, в частности для представителей семейств Monocystidae, Lecudinidae и Urosporidae (Miles, 1966; Vinckier, Vivier, 1968; Vinckier, 1969; Mac Millan, 1973; Sathananthan, 1977; Фролов, 1991; Landers, 2002; Dyakin, Simdyanov, 2005; Landers, Leander, 2005, и др.). Для уроспорид и моноцистид изменение кортикальной зоны тесным образом связано с изменением способа локомоции или полной утратой подвижности. Так, например, трофозоиты *Urospora chiridotae* (Dogiel, 1906) Goodrich, 1925 (Urosporidae) и *Diplauxis* sp. Vivier, Tuzet, Ormieres, 1964 (Lecudinidae) полностью неподвижны. Эти грегарины утрачивают характерные эпицитарные гребни, а на их поверхности обнаруживаются волосовидные выросты — цитопили (Vivier et al., 1964; Vivier, Petitprez, 1968; Porchet-Hennerė, Fisher, 1973; Dyakin, Simdyanov, 2005).

Моноцистида *Nematocystis magna* (Schmidt, 1854) Hesse, 1909 характеризуется метаболирующим движением, которое представляет собой чередование сокращенных и несокращенных участков тела. В области несокращенных участков структура кортикальной зоны не отличается от таковой у септированных грегарин. В сокращенных участках на поверхности формируются древовидные супергребни, форма которых непостоянна. В эктоците у этой грегарины обнаруживаются многочисленные контрактильные элементы (кольцевые микротрубочки и микрофиламенты) (Miles, 1966; Vinckier, 1969; Mac Millan, 1973).

Супергребни, формируемые кортикальной зоной *Bothriopsides histrio*, по своей структуре близки к аналогичным гребням *N. magna*. В образовании такой складки участвует не только эпицит, но и эктоцит. На ее поверхности располагаются многочисленные эпицитарные гребни. Однако наше исследование показало, что у трофозоитов *B. histrio* супергребни относительно постоянны, в то время как у *N. magna* они носят временный характер и формируются в процессе перистальтического движения трофозоита в сокращенной области (Mac Millan, 1973).

В эктоплазме *B. histrio* обнаружена мощная система кольцевых микротрубочек, заходящая в супергребни, за счет которых, по всей видимости, изменяется диаметр клетки. У *Nematocystis magna* имеется система кортикальных кольцевых и продольных микрофиламентов. Мак-Миллан (Mae Millan, 1973) предполагает, что эти микрофиламенты являются сократительной системой клетки. Видимо, микротрубочки эктоцита *Bothriopsides histrio* также выполняют сократительную функцию.

Как упоминалось выше, в пространстве между эпицитарными гребнями *Bothriopsides histrio* довольно часто располагаются клетки бактерий. Подобные ассоциации были описаны у грегарины *Porospora portunidarum* (Frenzel) (Desportes et al., 1977).

При внедрении бактериальной клетки между эпицитарными складками как у *Bothriopsides histrio*, так и у *Porospora portunidarum*, наблюдается деформация гребня. Но следует обратить внимание на то, что характер контакта двух грегарин с прокариотами в значительной степени различается. Так, между бактериями и эпицитарным гребнем *Porospora portunidarum* всегда остается щелевидное пространство (Desportes et al., 1977). Ассоциация *Bothriopsides histrio* и бактерий характеризуется очень тесным поверхностным контактом двух организмов.

В ассоциациях гребней *Porospora portunidarum* бактериальные клетки иногда располагаются непосредственно одна над другой, чего никогда не наблюдается у *Bothriopsides histrio*.

Было отмечено, что при контактах такого рода не происходит нарушений и изменений в ультраструктурной организации бактериальных клеток, эпицитарных гребней и эктоцита *Porospora portunidarum* (Desportes et al., 1977). Данное замечание справедливо и для описания системы бактерия—эпицит у *Bothriopsides histrio*.

Можно предположить, что отношения грегарины *Bothriopsides histrio* и бактериальных клеток взаимовыгодны или в крайнем случае нейтральны для одного из партнеров. Предполагая это, мы основываемся на том, что при наличии очень тесного контакта гребней эпицита грегарины с бактериальными клетками отсутствуют нарушения в организации как первых, так и вторых. Вместе с этим на поперечных срезах хорошо видно, что апикальные части эпицитарных гребней смыкаются при захвате бактериальных клеток. При этом возникают специальные компартменты на поверхности тела грегарины, которые и становятся средой обитания бактерии. Бактериальная клетка постоянно находится в пищевом субстрате, поступающем в пространство между складками эпицита, в свою очередь она секретирует ферменты, расщепляющие субстрат, который неспособна переварить эукариотическая клетка.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы хотим выразить глубокую признательность А. А. Кутину, заведующему Учебной лаборатории электронной микроскопии Санкт-Петербургского государственного университета за неоценимую помощь, поддержку и критику настоящего исследовани. Также мы хотели бы поблагодарить Т. П. Зяблицкую, Г. Г. Паскерову, А. К. Духанина, В. М. Семенова и А. И. Киселева.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 09-04-01682-а, 10-04-90746-моб_ст) и «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг. Министерства образования и науки РФ.

Список литературы

Иванов А. В., Полянский Ю. И., Стрелков А. А. 1981. Большой практикум по зоологии беспозвоночных. М.: Высш. шк. 504 с.

Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. 1957. Микроскопическая техника. Изд. 3-е. М.: Советская наука. 468 с.

Снигиревская Е. С., Хейсин Е. М. 1968. Роль микропоры в питании эндогенных стадий развития кокцидии *Eimeria intestinalis*. Цитология. 10 (8): 940—944.

Симдянов Т. Г. 1995. Ультраструктура двух видов грегарин рода *Lankesteria* (Eugregarinida: Lecudinidae). Паразитология. 29 (5): 424—432.

Симдянов Т. Г. 2007. Класс Gregarinea Dufour, 1828 — Грегарины. В кн: Протисты. Т. 2. СПб.: Наука. 20—149.

Фролов А. О. 1991. Мировая фауна грегарин: сем. Monocystidae. Тр. Зоол. ин-та РАН. 229: 127 с.

Baudoin J. 1961. Contribution à l'etude des gregarines des Dytiscides (Insectes Coleopteres). Bull. Biol. France, Belg. 95 (2): 389—404.

Baudoin J. 1967. Contribution à l'etude morphologique, biologique et écologique des Grégarines d'insectes à larves aquatiques. Ann. St. Biol. Besse-en-Chandesse. 2: 13—160.

Baudoin J. 1978. Particularites cytologiques du protomerite des gregarines des diplopodes. Protistologica. 14 (3): 261—268.

Clopton R. E. 2000. Order Eugregarinorida Léger, 1900. An Illustrated Guide to the Protozoa. Vol. 1 / Eds J. J. Lee, G. F. Leedale, P. Bradbury. Lawrence, KS (USA). Soc. Protozool. 1: 205—288.

Desportes I., Theodorides J., Vivares C. P. 1977. Association entre la grégarine *Porospora portunidarum* (Frenzel) et des bacteries intestinales de son hote *Carcinus mediterranus* Czer. (Crustacé, Décapode). Protistologica. 13 (4): 607—610.

Devauchelle G. 1968. Étude ultrastructurale du développement des Grégarines du *Tenebrio molitor*. Protistologica. 4 (3): 313—332.

Dyakin A. Y., Simdyanov T. G. 2005. The cortical zone of skittle—like cells of *Urospora chiridotae*, a gregarine from an apode holothuria *Chiridota laevis*. Protistology. 4 (2): 97—105.

Hayat M. A. 2000. Principels and techniques of electron microscopy. Biological application. 4th ed. 560 p.

Heller G., Weise R. W. 1973. A scanning electron microscope study on *Gregarina* sp. from *Udeopsylla nigra*. Journ. Protozool. 20 (1): 61—64.

Hildebrand H. F. 1980. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Entwicklungsstadien des Trophozoiten von *Didymophyes gigantea* (Sporozoa, Gregarinida). III. Die Feinstruktur des Epizyten mit besonderer Berücksichtigung der kontraktilen Elemente. Zeit. Parasitenk. 64 (1): 29—46.

Landers S. C. 2002. The Fine Structure of the Gamont of *Pterospora floridiensis* (Apicomplexa: Eugregarinida). Journ. Eukar. Microbiol. 49 (3): 220—226.

Landers S. C., Leander B. S. 2005. Comparative surface morphology of marine coelomic gregarines (Apicomplexa, Urosporidae): *Pterospora floridiensis* and *Pterospora schizosoma*. Journ. Eukar. Microbiol. 52 (1): 23—30.

Leander B. S., Harper T. J., Keeling P. J. 2003. Molecular phylogeny and surface morphology of marine aseptate gregarines (Apicomplexa): *Selenidium* spp. and *Lecudina* spp. Journ. Parasitol. 89 (6): 1191—1203.

Lipa J. J. 1967. Studies on Gregarines (*Gregarinomorpha*) of arthropods in Poland. Acta Protozool. 5 (8): 97—179.

Lucarotti C. J. 2000. Cytology of *Leidyana canadensis* (Apicomplexa: Eugregarinida) in *Lambdina fiscellaria fiscellaria* Larvae (Lepidoptera: Geometridae). Journ. Invertebr. Pathol. 75: 117—125.

Mac Millan W. G. 1973. Conformation changes in the cortical region during peristaltic movements of a gregarine trophozoite. Journ. Protozool. 20 (2): 267—274.

Miles H. B. 1966. The contractile system of the acephalane gregarine *Nematocystis magna*: Observation by electron microscope. Rev. Iber. Parasitol. 26 (4): 361—368.

Ormières R. 1977. *Pyxinia firmus* (Léger, 1892), Eugrégarine parasite du Coléopter *Dermestes frischi* Kugel. Étude ultrastructurale. Zeit. Parasitenk. 53 (1): 13—22.

Porchet-Henneré E., Fischer A. 1973. *Diplauxis schreveli*, n. sp. grégarine parasite du coelome de l'annelide polychète *Platynereis dumerilii*: cycle, et étude ultrastructurale preliminaire. Protistologica. 9 (4): 437—454.

Reynolds E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. Journ. Cell Biol. 17 (1): 208—212.

Sanders R. D., Poinar O. Jr. 1973. Fine structure and life cycle of *Lankesteria clarki* sp. n. (Sporozoa: Eugregarinida) parasitic in the mosquito *Aedes sierrensis* (Ludlow). Journ. Protozool. 20 (5): 594—602.

Sathananthan A. H. 1977. Cytochemical nature and fine structure of the gregarine *Zeylanocystis burti* Dissanaike, with special reference to microfilaments, microtubules and movement. Journ. Protozool. 24 (2): 233—243.

Scholtyseck E., Mehlhorn H. 1970. Ultrastructural study of characteristic organelles (paired organelles, micronemes, micropores) of Sporozoa and related organisms. Zeit. Parasitenk. 34: 97—127.

Schrevel J. 1970. Recherches ultrastructurales et cytochimiques sur le paraglycogene, reserve glucidique des gregarines et coccidies. Journ. Micr. 9 (5): 593—610.

Schrevel J. 1971. Contribution a l'etude des Selenidiidae parasites d'Annelides Polychetes. II. Ultrastructure de quelques trophozoites. Protistologica. 7 (1): 101—130.

Schrevel J., Caigneaux E., Gros D., Philippe M. 1983. The three cortical membranes of the gregarines. I. Ultrastructural organization of *Gregarina blaberae*. Journ. Cell Sc. 61: 151—174.

Schrevel J., Vivier É. 1966. Etude de l'ultrastructurale et du role de la region anterieure (mucron et epimerite) de Gregarines parasites d'Annelides Polychetes. Protistologica. 2 (3): 17—28.

Tronchin G., Schrevel J. 1977. Chronologies des modifications ultrastructurales au cours de la croissance de *Gregarina blaberae*. Journ. Protozool. 24 (1): 67—82.

Vinckier D. 1969. Organisation ultrastructurale corticale de quelques Monocystidees parasites du ver Oligochete *Lumbricus terrestris* L. Protistologica. 5 (4): 505—517.

Vinckier D., Vivier E. 1968. Organisation ultrastructurale corticale de la gregarine *Monocystis herculea*. Compt. Rend. hebdomadaires Seanc. l'Acad. Sc. Paris (Serie D). 266: 1737—1739.

Vivier E. 1968. L'organisation ultrastructurale corticale de la gregarine *Lecudina pellucida*; ses rapports avec l'alimentation et la locomotion. Journ. Protozool. 15 (2): 230—246.

Vivier É., Devauchelle G., Petitprez A., Porchet-Hennere E., Prensier G., Schrevel J., Vinckier D. 1970. Observations de cytologie comparee chez les sporozoaires. I. Les structures superficielles chez les formes vegetatives. Protistologica. 6 (1): 127—150.

Vivier É., Ormieres R., Tuzet O. 1964. Sur le cycle et les affinitees des Gregarines parastites du Polychete *Perinereis cultrifera* Grübe. Arch. Zool. Exper. Generale (Notes et Revues). 103 (1): 20—29.

Vivier É., Petitprez A. 1968. Les ultrastructures superfecielles et leur evolution au niveau de la jonction chez les couples de *Diplauxis hatti*, gregarine parasite de *Perinereis cultrifera*. Compt. Rend. hebdomadaires Seanc. l'Acad. Sc. Paris (Serie D). 266: 491—493.

Vavra J. 1969. *Lankesteria baretti* n. sp. (Eugregarinidae, Dyplocystidae), a parasite of the Mosquito *Aedes triseriatus* (Say) and review of the genus *Lankesteria* Mingazzini. Journ. Protozool. 16 (3): 546—570.

Vavra J., Small É. B. 1969. Scanning electron microscopy of gregarines (Protozoa, Sporozoa) and its contribution to the theory of gregarine movement. Journ. Protozool. 16 (4): 745—757.

Walker M. H., Lane N. J., Lee W. M. 1984. Freeze-fracture studies on the pellicle of the Eugregarine, *Gregarina garnhami* (Eugregarinida, Protozoa). Journ. Ultrastr. Res. 88: 66—76.

Walsh R. D., Callaway C. S. 1969. The fine Structure of the Gregarine *Lankesteria culicis* parasitic in the yellow fewer mosquito *Aedes aegypti*. Journ. Protozool. 16 (3): 536—545.

THE FINE STRUCTURE OF THE CORTICAL ZONE IN THE GREGARINE BOTHRIOPSIDES HISTRIO (EUGREGARINIDA: ACTINOCEPHALIDAE)

I. G. Voroby'eva, A. Yu. Dyakin

Key words: Bothriopsides histrio, cortical zone, annular folds, superfolds, epicyte, micropore, ultrastructure, bacteria.

SUMMARY

Attached and non-attached trophozoites of the septate gregarine *Bothriopsides histrio* were found in the intestine of the freshwater beetle *Acilius sulcatus*. Circular folds in the border between proto- and deutomerites and longitudinal striation, running along the entire body of the parasite, were revealed in an optical microscope. Our studies have demonstrated that circular folds, forming a specific collar, are formed of ecto- and endocytes. The longitudinal striation is represented by overdeveloped folds developed by the epicyte and the ectocite. Numerous typical epicite folds were observed over the entire cell surface. Additionally, the symbiosis between gregarine cells and bacteria was revealed.